

GF-1 PCR 纯化试剂盒说明书

版本 2.1

产品简介:

GF-1 PCR 纯化试剂盒用于快速纯化长度为 100bp-20kb 的 DNA 条带。试剂盒含有特殊的缓冲液，以提供合理的盐浓度和 pH 值，有效回收 80-90% 的 DNA。本试剂盒采用一个经特殊处理的玻璃纤维滤膜固定到柱子中，在高盐下有效地结合 DNA。试剂盒应用核酸纯化柱技术，适用于去除多余的 dNTPs，短寡核苷酸片段，矿物油，PCR 产物中的酶，酶切处理后的蛋白质、脱磷酸、残余染料和溴化乙锭。此试剂盒也适用于浓缩 DNA，改变缓冲液和脱盐。PCR 缓冲液含有 pH 指示剂，为了最佳 PH 值的测定，以便有效回收 DNA 片段，但同时不影响 DNA 的产量和质量，因为在随后的洗涤步骤中会将指示剂完全去除。以高回收率获取的纯 DNA 可随时用于许多常规的分子生物学应用实验，如酶切，放射性或荧光 DNA 测序，PCR，连接和转化，探针制备和其他操作。

试剂盒组成成份

	5 次	25 次	100 次	200 次
产品目录号	样品	CN/GF-PC-025	CN/GF-PC-100	CN/GF-PC-200
组份				
GF-1 亲和柱(GF-1 columns)	5	25	100	200
收集管 (Collection tubes)	5	25	100	200
缓冲液 PCR (Buffer PCR)	5ml	25ml	100ml	2 x 100ml
洗涤液 (浓缩液) *	2.4ml	9ml	34ml	2 x 34ml
WashBuffer(concentrate)*				
洗脱液 (Elution Buffer)	1.5ml	5ml	20ml	30ml
使用说明 (Handbook)	1	1	1	1

注意：标*的请参照配制方案以及其储存条件和稳定性。

GF-1PCR 纯化试剂盒有 25 次、100 次、200 次包装。本试剂盒仅供研究使用。

自备材料

无水乙醇 (>95%)

3M 醋酸钠, pH5.2

配制方案

贴有洗涤液标签的浓缩液，在使用前需用无水乙醇 (>95%) 稀释。

样品 (5 次):

在洗涤液中加入 5.6ml 无水乙醇。

CN/GF-PC-025 (25 次):

在洗涤液中加入 21ml 无水乙醇。

CN/GF-PC-100 (100 次):

在洗涤液中加入 80ml 无水乙醇。

CN/GF-PC-200 (200 次):

在洗涤液中加入 80ml 无水乙醇。使用完后再以同方式稀释第二瓶洗涤液。

洗涤液使用后拧紧瓶盖，室温保存。

储存及稳定性

- 溶液 20 °C-30 °C 保存。
- 试剂盒各组份自生产之日起可稳定保存 12 个月。缓冲液 PCR 在室温过低时易出现结晶，使用前请置于 55 °C-65 °C 环境中至晶体完全溶解。

化学危害

缓冲液 PCR 含有胍盐，当接触皮肤或吞服时可能造成危害。使用时一定要戴上手套并做好安全防护措施。不能将含有漂白剂或任何形式的酸性溶液加入到含有胍盐的提取废料中来进行消毒。清洁沾染试剂的物品，不需要用漂白剂和酸性溶液清洗，只需浸泡在洗涤剂和水中即可除去胍盐。

操作步骤

提示

- 所有操作均在室温下进行，除非另有说明。
- 洗涤液浓缩液在使用前务必用无水乙醇稀释，请参照配制方案。
- 如果缓冲液 PCR 出现沉淀或结晶，请置于 55 °C-65 °C 环境中至晶体完全溶解。
- 试剂盒为每 200µl DNA 样品纯化提供了足够数量的缓冲液 PCR，在缓冲液 PCR 不足的情况下，请单独购买所需的任何额外的缓冲液。

1、凝胶电泳

如有需要，进行琼脂糖凝胶电泳确认 DNA 条带。

2、均质化

确定样本体积，用无菌蒸馏水调整至 100µl，样本体积超过 100µl 可直接使用。在样本中加入 5 倍体积的缓冲液 PCR，漩涡振荡充分混匀或颠倒混匀数次。

如果样品增溶后颜色变成橙色、粉色或红色，则加入 5µl pH5.2 的 3M 醋酸钠，充分混匀，样品应变成黄色。

注：确保样品颜色为黄色 (pH 值 ≤ 7)，然后进行下一步骤。

3、装载到亲和柱

将最大不超过 1ml 的样品转移到一帶有干净收集管的柱子中。

10,000 x g (11,000rpm) 离心 1 分钟。丢弃废液。

重复操作步骤 2 中的剩余样本。

4、柱子洗涤

加入 750 μ l 洗涤液, 10,000 x g (11,000rpm) 离心 1 分钟。丢弃废液。

注: 使用前确保洗涤液已用无水乙醇稀释 (参照配置方案)。

5、柱子干燥

10,000 x g (11,000rpm) 离心柱子 1 分钟, 除去残留乙醇。

注: 这个步骤是为了完全除去所有残留乙醇, 因为残留乙醇会影响 DNA 质量, 还可能抑制后续的酶反应。

6、DNA 洗脱

将亲和柱放入一干净的微量离心管中, 取 30-200 μ l 洗脱液, TE 缓冲液或无菌水直接加到亲和柱的膜中央, 室温静置 2 分钟, 对于大于 8kb 的 DNA 片段, 使用 65 $^{\circ}$ C - 70 $^{\circ}$ C 预热洗脱液, 洗脱效果更好。10,000 x g (11,000 rpm) 离心 1 分钟, 以洗脱 DNA。DNA 4 $^{\circ}$ C 或 -20 $^{\circ}$ C 保存。

注: 对于较高浓度的 DNA, 在较小体积里洗脱下来, 如 30 μ l, 得率会略有减少。确保洗脱液被直接加入到膜中央以完全洗脱 DNA。TE 缓冲液中的 EDTA 可能抑制后续的酶反应, 但仍可洗脱 DNA。如果用水洗脱 DNA, PH7.0-8.5 时洗脱效果最好。当没有缓冲剂存在的情况下, DNA 可能降解, 此时 DNA -20 $^{\circ}$ C 保存。

故障排除

不按照给定的说明进行操作将会出现不符合标准的结果, 将影响 DNA 的得率和质量, 如果出现此类问题, 请参照以下内容处理:

问题	可能的原因	建议
DNA 回收率低	DNA 不完全洗脱	允许洗脱液与膜充分接触, 被直接分配到膜中央。洗脱液不要少于 30 μ l。
	洗脱液不正确	确保所用洗脱液为低盐缓冲液或 pH 为 7.0-8.5 的水。
	样品溶液 pH 值太高或样品增溶后 pH 指示剂出现橙色、粉色或红色	确保样品在转移到柱子之前已加入了 pH5.2 的 3M 醋酸钠溶液。
长度大于 8kb 的 DNA 回收率低	洗脱效率差	65 $^{\circ}$ C-70 $^{\circ}$ C 预热洗脱液。
洗脱的 DNA 在下游应用中性能差	洗脱下来的 DNA 含有残留乙醇	确保在洗脱之前柱子已进行离心干燥。

上海凯斯泰尔生物科技有限公司

地址: 上海市浦东新区康新公路 3377 号 2 号楼 604 室

电话: 021-68060114

传真: 021-68060114

邮箱: info@kestrel-china.com

网址: www.kestrel-china.com

Vivantis Technologies Sdn Bhd

1012 S.Coast Highway Suite 1,Oceanside CA 92054, USA.

Tel: +6 03 8025 1603

Fax: +6 03 8025 1637

Email: info@vivantechnologies.com

international@vivantechnologies.com

Web: www.vivantechnologies.com